胚培養技術在十字花科蔬菜遠緣雜交育種的應用

農試所鳳山分所 邱金春 林楨祐 陳甘澍
農試所作物組 林子凱

一、前言

十字花科蔬菜屬於種子繁殖作物，台灣選育的蕓苔屬蔬菜多具有早生、耐熱及品質優良的特性，不僅是國內最大宗蔬菜，每年也有大量種子外銷至東南亞國家。豐富的種原庫是作物育種成功的利器，尤其在講究專利權的今日，培育自有的優良品種即握有產業的優勢。蔬菜育種人員除了在蕓苔屬的亞種間進行品種改良研究外，遠緣雜交更是種(屬)基因轉移的一條重要途徑，經由遠緣雜交可以獲得品種間雜交難以得到的基因類型，尤其在雄不稔系育種中，遠緣雜交更是蔬菜獲得雄不稔特性的重要途徑。

二、遠緣雜交擴大植物種(屬)間的基因轉移

自然界植物間存有許多自花或異花不親和的現象，不親和的原因有因花粉管不能萌芽，或花粉管萌芽後無法進入珠心受精作用；有些雖可受精但受精卵卻發育不良而中途夭折，或即使受精卵順利發育成胚或種子，但種子播種後卻不會發芽等。由於遠緣雜交的親本之間其遺傳關係相對較遠，兩親本往往因為染色體同源性低，植物染色體經過減數分裂後無法正常配對，導致無法形成較多的二價體數目，因此遠緣雜交過程中會出現各種障礙，包括有雜交不親和、雜種胚敗育衰亡和雜種不育等，造成遠緣雜交失敗，這也是一般的人工雜交技術較難培育出遠緣雜種的原因。雜種胚的敗育是指雜交的障礙發生在受精之後，其表現分為三種情況：植物在雙受精後，雜種胚和胚乳不能正常發育，有的雜種胚分化受到抑制；雜種胚可以正常分化發育，但是雜交種子接近成熟時，雜種胚死亡；雜交種子雖然有胚，但不發芽，有的雖能發芽，但苗期死亡，不能成株。為了解決上述雜交不親和現象，發育初期的幼胚培養是優良途徑之一，尤其種間雜交，常需要借助胚、胚珠或子房的培養，以避免雜交胚的萎縮退化，目前國內外在十字花科作物遠緣雜交上均有成功的案例。

三、植物組織培養胚拯救技術

隨著生物技術的發展，克服遠緣雜交不親和性的方法越來越多，尤其是植物組織培養技術的建立和不斷改良，使得子房培養、胚珠培養和胚培養等胚拯救技術在遠緣雜交育種中得到了廣泛應用。胚拯救技術是在適當時機下將子房、胚珠或雜種胚切離母體，在無菌的

作　　者：邱助理研究員金春
連絡電話：07-7310191-707

條件下放在人工製備的培養基，置於適當的營養組成份及適宜的溫度、光照等生長條件進行培養，使它再生成植株。子房培養主要用來克服早期胚敗育(圖一)，對於已發育至心型至魚雷型期的雜種胚，通常直接摘取受精胚進行胚拯救。由於親本之間的親和力低，遠緣雜種胚的分化受到抑制，其發育通常比正常胚弱小，對於在球型或心型胚階段即發生敗育的遠緣雜種胚而言，很難從子房中直接剖離出幼胚進行胚培養，在此種情況下初期可以先摘取整個子房進行培養，而在子房培養後期再將胚珠或胚切離出來轉移到新鮮培養基上繼續培養。

圖一、子房培養主要用來克服早期胚敗育。

圖二、受精胚摘取時間是遠緣雜交胚培養成功與否的關鍵因子之一。

雖然經由遠緣雜交可以擴大植物種(屬)間的基因轉移，獲得品種間雜交難以得到的基因型而進行作物品種改良，然而影響子房培養、胚珠培養和胚培養成功與否的因素很多，尤其是種間雜交的親和性及胚珠退化時間會隨著雜交組合親本的不同而有差異，親本的基因型對其有很大的影響，在雜種胚敗育發生之前，掌握適當的受精胚摘取時間是影響胚培養成功與否的關鍵因子之一(圖二)。此外，培植體對培養基組成的要求也會因為不同基因型親本和雜交組合，與培植體切離母體時胚的發育程度而有差異性，如在早期幼胚時期即切離母體培養，通常需要較多的外源生長物質，培養基組成份較為複雜；而越接近成熟的雜種胚培養，則對培養基內生長物質或複合添加物的要求較少。

四、十字花科蔬菜遠緣雜交育種

十字花科植株具有明顯的雜種生育優勢與生長整齊一致的優點，使得一代雜交種(F_1)已成為十字花科蔬菜栽培主流，然而花器小，人工除雄不易，因此F_1種子生產成本極高。為了簡化採種過程，提高育成效率及生產力，利用具有自交不親和性或細胞質雄不稔性基因親本培育優良F_1品種，已成為十字花科蔬菜育種趨勢。惟國外成功開發的雄不稔系大都受到專利權的保護，因此育種人員均致力於尋找本土自交不親和性或細胞質雄不稔性基因的種原，遠緣雜交胚培養技術的建立，可以使育種者辛苦發現的雄 稔種質能擴大應用於不同的蔬菜作物之間。

芸苔屬植物是遺傳類型極其豐富的族群，為種間雜交或近緣屬間雜交創造新品種提供了深厚的遺傳背景，近年來各國對芸苔屬植物亞種間和種間以及十字花科其他屬間雜種胚培養、子房培養進行了廣泛的研究，並培育出了許多種(屬)間新品種或品系，例如甘藍型油菜(*B. napus*)是由*B. campestris*和*B. oleracea*交配後產生之異質四元體(amphidiploid)，*B. napus*雄不稔特性可以藉由遠緣雜交轉移至青花菜(*B. oleracea* var. italica)自交系中，蘿蔔的線蟲抗性基因可以經由屬間雜交導入甘藍型油菜中。緣於此，經由雜交胚拯救技術，我們初步分別獲得芥藍(*B. oleracea* var. alboglabra)與甘藍型油菜、花椰菜(*B. oleracea* var. botrytis)與青梗白菜(*B. campestris* var. chinensis)、花椰菜與芥菜(*B. juncea*) (圖三～五)、等三個新種間雜交種，新類型蔬菜的開發可以輔助傳統蔬菜育種，提供育種者更多樣化的材料選擇。此外，我們以具雄不稔性之芥藍與蘿蔔為育種親本，正嘗試將不稔性基因導入其他芸苔屬蔬菜，以期能將雄不稔種質擴大應用於十字花科蔬菜育種。

五、結語

胚拯救技術不僅使過去人工雜交難於獲得雜種的遠緣雜交獲得了雜種，而且大大地提高了獲得遠緣雜種的頻率，這對於開發與利用植物遺傳資源培育新品種和新類型蔬菜，開闢了一個新途徑，使日趨成熟的胚拯救技術能成為十字花科蔬菜育種的重要輔助手段。

圖三、胚拯救培養可以克服雜種胚敗育進而開創新品種(圖為*B. oleracea* var. alboglabra x *B. napus*)。。

圖四、芸苔屬種間雜交種(*B. oleracea* var. botrytis x *B. juncea*)。

圖五、芸苔屬種間雜交種(*B. oleracea* var. botrytis x *B. campestris* var. chinensis)。

作物育種